

Title	Regulation of Epidermal Growth Factor Receptor Levels by 1,25-Dihydroxyvitamin D3 in Human Breast Cancer Cells
Author(s)	古賀, 正史
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36760">https://hdl.handle.net/11094/36760</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">/a&gt;</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	古賀正史
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8818 号
学位授与の日付	平成元年 8 月 12 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	Regulation of Epidermal Growth Factor Receptor Levels by 1, 25-Dihydroxyvitamin D <sub>3</sub> in Human Breast Cancer Cells (1, 25-Dihydroxyvitamin D <sub>3</sub> によるヒト乳癌細胞の Epidermal Growth Factor レセプターの調節)
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 進 (副査) 教授 松本 圭史 教授 荻原 俊男

### 論文内容の要旨

#### (目 的)

1, 25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> [1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] は Ca 代謝調節作用の他, 細胞増殖の調節や分化誘導作用を有している。近年ヒト乳癌細胞において 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> は 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> レセプターを介して細胞増殖を抑制することが明らかになったが, その機構の詳細は不明である。一方ヒト乳癌細胞は  $\alpha$ -transforming growth factor ( $\alpha$ -TGF) などの autocrine growth factor を分泌している事, またその pathway を種々のステロイドホルモンが調節する事により細胞増殖を制御することが明らかになった。そこで 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の乳癌細胞における細胞増殖の制御機構を解明するため,  $\alpha$ -TGF の作用を mediate する Epidermal Growth Factor (EGF) レセプターの発現に対する 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の影響を検討した。

#### (方 法)

培養ヒト乳癌細胞を 1% charcoal 処理胎児牛血清および種々の濃度の 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> あるいはそのアナログを含む RPMI 1640 で 37℃, 24 時間培養した。細胞を 0.1% BSA 含有 RPMI 1640 で洗浄後に EGF 結合を whole cell binding assay にて測定した。EGF 結合は <sup>125</sup>I-EGF を用いて 37℃, 1 時間 incubate した。非特異的結合の測定は 50 nM EGF を用いて行った。

#### (成 績)

24 時間 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 処理によりヒト乳癌細胞 (T-47D) の EGF の特異的結合は濃度依存性に抑制された (ED<sub>50</sub> = 2 nM)。この減少は EGF 結合の測定を 0℃, 18 時間の条件で行っても, レセプターに preoccupy している ligand を酸処理 (酢酸緩衝液 pH 5, 1 分) して除いた後に EGF 結合の測

定を行っても同様の結果であった。1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の EGF 結合の抑制作用は 2 時間後より観察され 24 時間で最大効果が得られ、少なくとも 48 時間まで持続していた。Scatchard 解析にて 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> は EGF レセプターの親和性に影響せず、レセプター数を減少させていた。1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> のアナログを用いて EGF レセプターに対する効果を検討したところ、EGF 結合の抑制の程度は 1, 25-(OH)<sub>3</sub>D<sub>3</sub> > 1, 24, 25-(OH)<sub>3</sub>D<sub>3</sub> > 1, 25, 26-(OH)<sub>3</sub>D<sub>3</sub> > 24, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ≥ 25-OH D<sub>3</sub> の順であった。この成績は 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> レセプターに対する親和性あるいは T-47D 細胞に対する増殖抑制作用の程度とよく相関していた。1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> に対して細胞増殖が抑制を受ける MCF-7 細胞は T-47D と同様に 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> により EGF 結合が抑制されたが、細胞増殖が影響を受けない HBL-100 細胞、MDA-MB-231 細胞の EGF 結合は不変あるいは増加していた。

(総括)

- (1) ヒト乳癌細胞 T-47D の EGF 結合は 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> により濃度依存性に抑制された。EGF 結合の抑制はレセプター数の減少に起因していた。
- (2) 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> アナログによる EGF 結合の抑制の程度は 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> レセプターの結合親和性とよく相関したことより、1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> レセプターを介した作用と考えられた。
- (3) 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> による細胞増殖抑制作用は、EGF レセプターを介して作用する autocrine growth factor ( $\alpha$ -TGF) の感受性の低下が一因と考えられた。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> [1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] によるヒト乳癌細胞の細胞増殖の抑制機構を解明するため、 $\alpha$  transforming growth factor ( $\alpha$ -TGF) の作用を mediate する epidermal growth factor (EGF) レセプターの発現に対する 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の影響について検討したものである。ヒト乳癌細胞 (T-47D) の EGF 結合は 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> により濃度依存性に抑制され、この抑制はレセプター数の減少に起因していた。またこの現象は 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> レセプターを介した作用によることも明らかにした。1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> による細胞増殖抑制作用は、EGF レセプターを介して作用する autocrine growth factor ( $\alpha$ -TGF など) の感受性の低下が一因と考えられた。本研究はヒト乳癌に対する 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の細胞増殖抑制作用の解明に寄与し、博士論文に価するものである。